

**Über den Kohlenhydratstoffwechsel
in der Rispenhirse
(*Panicum miliaceum* L.)**

Rita Ziegler

1964

AUS DEM PHYSIOLOGISCH-CHEMISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Komm. Direktor: Prof. Dr. P. Karlson

**Über den Kohlenhydratstoffwechsel
in der Rispenhirse
(*Panicum miliaceum* L.)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Rita Ziegler
Höchstädt-Donau

München 1963

1. Berichterstatter: Prof. Dr. L. BRAUNER
2. Berichterstatter: Prof. Dr. A. BUTENANDT

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Mai 1964



Herrn Professor Dr. L. Brauner danke ich herzlichst für seine Einwilligung, dass die vorliegende Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach am Physiologisch-chemischen Institut der Universität München in den Jahren 1961-1963 durchgeführt werden konnte.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach möchte ich an dieser Stelle für das grosse Interesse, das er immer für meine Arbeit zeigte, sowie für die vielen Anregungen und Diskussionen herzlichst danken.

Herrn Professor Dr. P. Karlson, komm. Direktor des Physiologisch-chemischen Instituts der Universität München, bin ich für die gastliche Aufnahme in seinem Institut zu besonderem Dank verpflichtet.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung.	
a. Bedeutung der Hirse in Vergangenheit und Gegenwart.	1
b. Problemstellung der Arbeit.	5
c. Bisherige Arbeiten über die in der Hirse vorkommen- den Kohlenhydrate.	10
B. Eigene Arbeiten: Die Fruktosane der Hirse.	
1. Die Gewinnung des Ausgangsmaterials.	12
2. Übersicht über den Gang der Aufarbeitung des Roh- materials.	14
3. Die verschiedenen Trennungsversuche.	15
a. Abtrennung der Mono-, Disaccharide und Salze mit Hilfe einer Kohle-Celite-Säule und Wasser als Elutionsmittel.	15
b. Weitere Auftrennung des Rohmaterials in Poly- fruktosane und Oligosaccharide an einer Kohle- Celite-Säule mit Alkohol steigender Konzentration	17
c. Abtrennung der Oligosaccharide von den Polyfrukto- sanen mit Hilfe einer Sephadex-Säule und Wasser.	19
d. Feintrennung der über die Kohle-Celite-Säule und über die Sephadex-Säule erhaltenen Oligosaccharid- Fraktionen auf Papierbögen.	23
4. Die Identifizierung der Oligosaccharide.	27
5. Die Identifizierung von Glucose, Fruktose und Saccha- rose.	29
6. Zusammensetzung eines enteiwässerten Hirse-Extraktes.	30
7. Die Polyfruktosane der Hirse, Ergebnis der Methy- lierungsanalyse.	31
C. Diskussion der Ergebnisse.	35
D. Zusammenfassung.	39
E. Literaturangaben.	40
Lebenslauf.	

A. Einleitung.

a. Bedeutung der Hirse in Vergangenheit und Gegenwart.

Gemessen an der Bedeutung anderer Getreidepflanzen für die menschliche Ernährung, spielt die Hirse in unseren Breiten keine entscheidende Rolle mehr. Die Erinnerung an ihre frühere Bedeutung ist nur in unseren Märchen, in denen der Hirsebrei immer wieder erwähnt wird, lebendig geblieben. Jedoch in weiten Teilen Afrikas und Asiens gehört die Hirse heute noch zu den wichtigsten Kulturpflanzen überhaupt. Dies geht deutlich aus nachfolgender Tabelle hervor (18) :

Getreide	Anbauflächen (Mill.ha) d. verschied.Getreide a.d. Erde f.d.J. 1946-1948	Verteilung d. Anbauflächen (Mill.ha) f. Hirse über d. verschied.Länder
Weizen	159,94	Asien 43,47 Afrika 18,26 Amerika 2,86 Europa 0,24 Ozeanien 0,04
Hafer, Gerste, Roggen	138,54	
Reis	84,40	
Mais	84,36	
Hirse	64,87	

Tabelle 1

Unter dem Namen Hirse fasst man eine Reihe von Getreidepflanzen der verschiedensten Pflanzengattungen zusammen, die durch kleine, rundliche, etwas abgeflachte Körner ausgezeichnet sind.

Die Hirse gehört wohl mit zu den ältesten Kulturpflanzen der Welt überhaupt. Nach E. HAHN (22) soll sie sogar die allerälteste sein. Später wäre dann erst die Gerste und dann der Emmer gefolgt. Sicher lässt sich dies aber nicht beweisen.

Sehr alt ist der Anbau der Hirse in Ostasien. Schon im Sanskrit Ostindiens haben zwei verschiedene Arten ihre eigenen Namen. Man darf annehmen, dass die Hirse das eigentliche Nährkorn der Ureinwohner Indiens war. Von Indien aus dürfte die Hirse dann nach China gekommen sein (7). Es existiert eine Verordnung des chinesischen Kaisers Shen-Nung, des Begründers des chinesischen Ackerbaus, aus dem J. 2700 v. Chr., derzufolge die Hirse zusammen mit Weizen und Soja alljährlich zur Zeit der Frühlings-Tagundnachtgleiche vom Kaiser selbst unter besonderen Feierlichkeiten ausgesät werden sollte. Demnach dürfte also die Hirse mehr als 4500 Jahre alt sein (81). Nicht zu Unrecht werden die Nord-Chinesen auch als "Hirseesser" bezeichnet und von den Süd-Chinesen, den "Reisessern" unterschieden.

Das eigentliche Kerngebiet der Hirsekultur ist der Landstreifen, der sich vom westlichen Nord-China durch Zentralasien bis Turkestan und Turan erstreckt. Die mongolischen und kirgisischen Nomaden dieser Gebiete bauten seit altersher Hirse als einziges Getreide. Auch in Transkaukasien und den angrenzenden Gebieten bildete die Hirse die Hauptnahrung der Bevölkerung (7).

Überall, wo heute noch in diesen Gebieten Hirse gegessen wird, handelt es sich in erster Linie um die Rispenhirse *Panicum miliaceum* (10). Eine geringere Rolle spielt das Kaffernkorn (*Sorghum vulgare*) und die Zuckerhirse (*Sorghum saccharatum*). Das Kaffernkorn, auch Mohrenhirse genannt, scheint afrikanischen Ursprungs zu sein. Es soll ebenfalls früh über Indien nach China gekommen sein. In jüngster Zeit erfährt eine neue *Sorghum*-Art (*Sorghum cernuum*) wachsende Bedeutung, besonders als Kornfrucht (10).

Sie ist ebenfalls afrikanischen Ursprungs, hat aber einen neuen Impuls vornehmlich durch grosszügige Züchtung und Anbauversuche in den tropischen Gebieten Nord-Amerikas erhalten. Unter der amerikanischen Bezeichnung "Milocorn" wird diese Hirse in der ganzen Welt gehandelt. Interessante Anbauversuche sind damit auch in anderen Hirseländern, namentlich in China mit Erfolg durchgeführt worden.

In Afrika spielen neben dem Kaffernkorn eine Reihe von speziellen Hirsen, wie der berühmte Tef u.a. eine Rolle, als dessen Stammart *Eragrostis pilosa* angesehen wird. Der Tef ist als Kulturpflanze auf sein Entstehungsgebiet Abessinien beschränkt geblieben. Ansonsten gelangt dort die Negerhirse *Pennisetum spicatum* zum Anbau, die sich, gleichfalls wie *Andropogon sorghum*, polyphyletisch aus der Bastardierung einer ganzen Reihe afrikanischer Wildarten herleiten lässt (81).

Das europäische Hauptgebiet des Hirseanbaus liegt in Südrussland. Auch hier muss der Anbau sehr alt sein. Es handelt sich hier ausschliesslich um die Rispenhirse, deren wilde Stammform in *Panicum spontaneum* vermutet wird. Nomaden sollen sie bei ihren Wander- und Eroberungszügen aus dem zentralasiatischen Hochland nach Europa gebracht haben, offensichtlich in zwei auseinander liegenden Zügen, einem älteren südlich der Donau in das Alpengebiet, und einem jüngeren nördlich der Donau. Vorgeschichtliche Funde beweisen dies (7).

Die Kolbenhirse stammt von der Grünhirse (*Setaria viridis*) ab, einer weltweit verbreiteten Unkrautpflanze. Nach N. J. VAVILOV (85) ist Zentralasien das Mannigfaltigkeitszentrum der Kolbenhirse. Aber der Autor selbst meint, dass es nahezu unmöglich sei den Ort des eigentlichen Kulturbeginns genau festzulegen.

Erst von der Bronzezeit an tritt die Kolbenhirse in Europa auf, die Rispenhirse bereits in der Jungsteinzeit (7). Beide Arten waren bis ins späte Mittelalter hinein in

Mitteleuropa wirtschaftlich bedeutende Kulturpflanzen. Die Rispenhirse hat von jeher in Deutschland die grössere Rolle gespielt; die Kolbenhirse hat sich den ganzen Mittelmeerraum, namentlich Italien, erobert, wo sie heute noch zu den wichtigsten Futterpflanzen gehört. Als bedeutende Kulturpflanzen, besonders für die menschliche Ernährung, verfielen sie mit der Verdrängung der Breinahrung durch Brot immer mehr der Bedeutungslosigkeit (7).

In Deutschland werden Zuchtsorten der Rispenhirse vornehmlich für die Erzeugung von Zwischenfruchtfutter verwendet, besonders in den wärmeren Lagen Süddeutschlands (10). In Ostdeutschland waren grosse Chancen gegeben für diesen Zwischenfruchtbau, wie auch für die Kornerzeugung. Zur Korngewinnung wird die Rispenhirse in beschränktem Masse heute noch im Bayerischen Wald angebaut.

Beiliegende Tabellen bringen eine Übersicht der wirtschaftlich wichtigsten Hirsearten.

wissenschaftl. Name d. Hirse	deutscher Name	Anbaugebiet	Bedeutung und Verwendung	ortsübliche Bezeichnung.
<i>Sorghum</i> (<i>Andropogon</i> <i>sorgh.</i>) <i>vulgare</i>	Mohrenhirse, Kaffernkorn	Ostasien (China, Indien), Ostafrika, Südeuropa.	Breinnahrung f. den Menschen; neben <i>Panicum miliaceum</i> die in Nord-China wirtsch. wichtigste Hirseart.	f. die Gattung <i>Sorghum</i> : Kooliang (China, Mandsch.) <i>Doura, Durrah</i> (Arabien, Ägypten, Sudan) <i>Mtama</i> (Ostafrika) <i>Durra</i> (Südeuropa)
<i>Sorghum</i> <i>saccharatum</i>	Zuckerkaffernhirse, Zuckermohrenhirse, Zuckerhirse	Mittelmeergebiet (u. a. Italien)	f. d. Zucker- u. Sirupfabrikation; Alkohol- u. Cellulosegewinnung; Grünfütterpflanze.	
<i>Sorghum</i> <i>technicum</i>	Besenhirse	Ostasien	Grünfütterpflanze; f. techn. Zwecke (Besen, Matten)	
<i>Sorghum</i> <i>cernuum</i>	nackte Hirse	U.S.A., China	Kornfrucht f. d. menschl. Ernährung	
<i>Eragrostis</i> <i>abessinica</i>	—	Abessinien	Breinnahrung für den Menschen.	Tef

Übersicht der wirtschaftlich wichtigsten Hirsearten

wissenschaftl. Name d. Hirse	deutscher Name	Anbaubgebiet	Bedeutung und Verwendung	volkstüml. Bezeichnung.
<i>Panicum miliaceum</i>	echte Hirse, deutsche Hirse, (echte) Rispenh.	Ostasien (China, Indien), Mittel- europa (u.a. Deutsch- land)	Breinnahrung für den Menschen; ne- ben Sorghum vulgare die in China wirt- schaftlich wichtigste Hirseart.	
<i>Panicum frumentaceum</i>	japanische Hirse, Kornhirse	Indien, weniger bedeutend i. China.	f. d. menschliche u. tier. Ernährung	
<i>Pennisetum typhoideum</i>	Negerhirse, Perlhirse, Kasachische Hirse	Afrika	f. d. menschliche Ernährung	
<i>Setaria</i> sp.	Borstenhirse	Südeuropa	f. technische Zwecke	Fennich ist die volkstüml. Bezeichnung für verschiede- ne Arten dieser Gattung.
<i>Setaria italica</i>	Kolbenhirse, italienische Hirse	Südeuropa, Mit- telmeerraum	seltener f. d. menschliche Ernährung; Futterpflanze; i. Deutschld. selten.	

Übersicht der wirtschaftlich wichtigsten Hirsearten (Fortsetzung)

b. Problemstellung der Arbeit.

Die Kohlenhydrate, darunter die Zucker, gehören zu den häufigst vertretenen Bestandteilen des tierischen und pflanzlichen Organismus, in denen sie zahlreiche wichtige Funktionen ausüben.

Systematisch teilt man die Kohlenhydrate in Mono-, Di-, bzw. Oligo- und Polysaccharide ein.

Die natürlich vorkommenden Monosaccharide enthalten meist 5 oder 6 Kohlenstoffatome; man nennt sie auch Pentosen bzw. Hexosen. Zu letzteren gehören die stoffwechselphysiologisch so bedeutsame Glucose und Fruktose.

Ein Disaccharid besteht aus 2, ein Oligosaccharid aus 3-8 Monosaccharidresten, wobei diese gleich oder verschieden sein können. Die meisten bisher bekannten Oligosaccharide enthalten die Monosaccharidreste kettenförmig aneinandergereiht. Die Zahl der bekannten Oligosaccharide ist gering im Verhältnis zur Zahl der möglichen Isomere.

Das bekannteste Disaccharid ist die Saccharose. Sie macht den Hauptbestandteil des Phloemsaftes aus (89) und ist daher in den Pflanzen sehr verbreitet. Sie konnte auch als die Hauptwanderform der Zucker, bzw. der Assimilate in den Leitbahnen nachgewiesen werden (89,86, 88). Nicht ganz so häufig kommen die Oligosaccharide Raffinose, Stachyose und Verbascose vor (89). Die Raffinose und ihre Homologen, bis zum Decasaccharid bekannt, sollen beim winterlichen Zuckermaximum der Pflanzen eine Rolle spielen (28). Über die zellphysiologische Bedeutung ist kaum etwas bekannt, wenn man davon absieht, dass sie im Winter rasch verwertbare Kohlenhydratreserven darstellen. M. H. ZIMMERMANN (89) sieht in der Raffinose ebenfalls wie in der Saccharose eine besondere Transportform der Zucker im Siebröhrensaft.

Ganz allgemein wird heute die Hauptaufgabe der Oligosaccharide darin gesehen, einen gewissen Vorrat an schnell mobilisierbarer Energie bereitzuhalten und über-

dies noch einen verhältnismässig geringen Beitrag zum osmotischen Wert zu liefern.

Die eigentlichen Polysaccharide sind von den Oligosacchariden in einigen Eigenschaften grundsätzlich, in vielen weitgehend verschieden. Andererseits bestehen zwischen den Monosacchariden und den Oligosacchariden keine prinzipielle, sondern nur graduelle Unterschiede in Bezug auf ihr chemisches und physikalisches Verhalten. Die Grenze wird heute aus verschiedenen Gründen zwischen 7 oder 8 Monosaccharidresten gelegt.

Wie der Name "Polysaccharid" sagt, handelt es sich bei diesen um Stoffe, die aus vielen Monosaccharidresten aufgebaut sind. Das Aufbauprinzip ist grundsätzlich das gleiche wie das der Oligosaccharide: die einzelnen Monosaccharidreste (od. Uronsäurereste etc.) sind durch glykosidische Bindungen miteinander verknüpft. Durch Hydrolyse mit Säuren sind diese polymeren Kohlenhydrate in die einzelnen Bausteine zerlegbar.

Viele Polysaccharide enthalten nur ein einziges Monosaccharid als Baustein, und zwar sind dies gerade die, welche mengenmässig am weitesten verbreitet sind: die Cellulose, die Stärke und das Glycogen sind aus D-Glucose, das Inulin aus D-Fruktose, das Chitin aus D-Glucosamin aufgebaut.

Man spricht infolgedessen bei der Cellulose, der Stärke usw. auch von den Polyglucosanen, beim Inulin von einem Polyfruktosan.

Zu zwei anderen Gruppen lassen sich die Polysaccharide auf Grund ihrer biochemischen Bedeutung zusammenfassen: die "Gerüstkohlenhydrate" und die "Reservekohlenhydrate". In die erste Gruppe gehört die Cellulose, der wichtigste Gerüststoff des Pflanzenreiches, ferner Chitin, der Gerüststoff von Crustaceen, Insekten und Pilzen. Zur zweiten Gruppe sind die Stärke, Glycogen und die Polyfruktosane zu zählen.

Diese beiden Gruppen der Polysaccharide unterscheiden

sich entsprechend ihrer verschiedenen Funktion in der Pflanze bzw. im Tier durch ihre Löslichkeit und ihr Verhalten gegenüber Enzymen.

Das Vorhandensein dieser Reservekohlenhydrate, die von den Pflanzen in ihren Früchten, Samen und vegetativen Speicherorganen eingelagert werden, bildet die wichtigste Grundlage für die menschliche und tierische Ernährung (29). Die Pflanzen, die dieser gespeicherten Substanzen wegen vom Menschen geerntet werden, sei es durch landwirtschaftlichen Anbau oder durch Ernte von wildwachsenden Arten, gehören den verschiedensten Pflanzenfamilien an (19). Mit die wichtigste dürfte wohl die Familie der Gramineen sein. Zu ihr gehören die Getreidearten der gemässigten Zone: Roggen, Weizen, Gerste und Hafer, und die der heisseren Gegenden: Reis, Mais und Hirse. Zu ihr gehören aber auch die Weidegräser und das Zuckerrohr.

Der Reservestoff, durch den fast alle diese Gewächse und besonders die Getreidearten zu ihrer grossen wirtschaftlichen Bedeutung gelangt sind, ist die Stärke, die bis zu 70 % im reifen Getreidekorn enthalten ist. Ihr Aufbau ist, besonders durch die Arbeiten der letzten Jahre weitgehend aufgeklärt (27,20). Während die Stärke als unlösliches, hochpolymeres Kohlenhydrat den Reservestoff für die Zeit der Winterruhe darstellt, bilden die Getreidearten für die vorübergehende Speicherung überschüssiger Assimilate wasserlösliche, aus Fruktose aufgebaute Kohlenhydrate, die Polyfruktosane.

Vertreter dieser Stoffklasse sind im Pflanzenreich weit verbreitet (14).

Sie finden sich als Inulin in den Knollen von Compositen, als Irisin in den Rhizomen der gelben Schwertlilie (64), als Asparagosin in den Wurzeln des Spargels (47) und als Sinistrin in der Meerzwiebel *Scilla maritima* (69). In der allerjüngsten Zeit wurden Fruktosane in Laub- und Lebermoosen (11,37,38,36), in der Keulenlilie *Cordyline*

terminalis (9) und im Amaryllisgewächs *Lycoris radiata* (25) entdeckt. Wirtschaftlich bedeutsam schliesslich ist das Vorkommen der Fruktosane in den verschiedenen Futtergräsern (41,42), für deren Nährwert im frischen wie im getrockneten Zustand sie entscheidend verantwortlich sind.

Gerade wegen der grossen Bedeutung haben W. N. HAWORTH und Mitarbeiter (23), R. MONTGOMERY und F. SMITH (34), besonders aber H. H. SCHLUBACH und Mitarbeiter (40-80) Untersuchungen über den Bau der Polyfruktosane, zunächst der wichtigsten Futtergräser, später auch der Getreide angestellt.

Dabei hat sich Folgendes ergeben:

Die Polyfruktosane sind aus Fruktofuranose-Ketten aufgebaut. Die Fruktoseeinheiten können derart miteinander verbunden sein, dass das Kohlenstoffatom 2 der einen Fruktose mit dem Kohlenstoffatom 6 des nächsten Fruktoserestes verknüpft ist. Diese Art der Bindung wird als Phleintyp bezeichnet nach der Graminee *Phleum pratense*, bei der dieser Typ ebenfalls gefunden wurde (42, 61,71). Die Fruktosemolekel können auch in der 1-2 Bindung miteinander verknüpft sein, wie zuerst im Inulin nachgewiesen wurde (24,63,79). Diese Bindungsart bezeichnet man deshalb als Inulintyp. Beide Bindungstypen ermöglichen den Aufbau einer polymerhomologen Reihe. Die Bildung dieser Ketten erfolgt in allen Fällen durch Transfruktosidierung auf der Saccharose oder einer, bisher noch nicht isolierten, Difruktose (65,72,43). Im einen Fall kommt es zur Bildung glucosehaltiger Polyfruktosane, im anderen entstehen glucosefreie Polyfruktosane. Die Transfruktosidierung auf der Saccharose kann entweder auf der Fruktosehälfte (66) oder in seltenen Fällen auf dem Glucoseteil der Saccharose erfolgen (68, 45). Im ersten Fall ist natürlich ein Glucosemolekel Kettenanfangsglied und es entstehen im weiteren Verlauf des Kettenaufbaus Homologe des Trisaccharids Kestose

(G11-2Fr6-2Fr) bzw. Isokestose (G11-2Fr1-2Fr), im zweiten Fall steht eine Fruktose am Anfang einer Kette, wobei Homologe des Trisaccharids Neokestose (Fr2-1G16-2Fr) gebildet werden. Die Isolierung dieser Zwischenglieder gelang H. H. SCHLUBACH und Mitarbeiter erst durch eine kombinierte Anwendung verschiedenster Trennungsv erfahren. Erstmals geschah dies durch H. O. A. KOEHN an Roggenhalmen (65,66,43).

Die Polyfruktosane der untersuchten Futtergräser sind aus unverzweigten Fruktofuranose-Ketten aufgebaut, folgen bei der Verknüpfung dem Phleintyp und weisen einen ziemlich hohen Polymerisationsgrad auf; z.B. können die Ketten bei *Lolium perenne* aus bis zu 50 Fruktoseeinheiten bestehen (42). Bei unseren Getreidepflanzen sind die Verhältnisse komplizierter. Neben einer stärkeren Verzweigung und einem geringeren Polymerisationsgrad als bei den Futtergräsern tritt hier neben dem Phleintyp auch der Inulintyp auf (52,60,75,67,44). Beide Bindungstypen werden in den Roggenhalmen gleichzeitig angetroffen (66), wo deutlich zwei polymerhomologe Reihen mit Inulin- und Phleinbindung nebeneinander vorliegen.

Nachdem nun zahlreiche Untersuchungen über Polyfruktosane und deren mögliche Biogenese an den wirtschaftlich wichtigsten Getreidepflanzen, wie Roggen (67,44,65,66), Weizen (60,75,68), Hafer (74,54,45) und Gerste (52,46) durchgeführt worden waren, lag es nahe auch noch die Rispenhirse in diesen Fragenkreis miteinzubeziehen. Das Ziel dieser Arbeit war nun die eventuell vorhandenen Polyfruktosane der Rispenhirse zu isolieren, ihre Konstitution zu bestimmen und, wenn möglich, auch die niederen Glieder dieser Kette zu erfassen, um daraus ebenfalls die Biogenese der Polyfruktosane zu rekonstruieren.

c. Bisherige Arbeiten über die in der Hirse vorkommen-
den Kohlenhydrate.

Auf Grund ihrer wirtschaftlichen Bedeutung liegen zahlreiche Untersuchungen über die Aufarbeitung und Verwertung der Hirse, besonders der Zuckerhirse vor. Für das italienische Klima sei vor allem letztere die geeignete Alkohol- und Futterpflanze (35,5). Ausserdem dient sie als Rohstoff für Cellulose (30) und ist wichtig für die Zell- und Papierstoffgewinnung (17).

Mit der Veränderung der Zucker im Laufe einer Vegetationsperiode beschäftigen sich nur wenig Arbeiten. So untersuchten R. SALANI, P. TONO und A. GARAGNANI (39) das Verhältnis von Fruktose zu Glucose in Sorghumsäften während einer Entwicklungsperiode der Pflanze. Anfangs betrug dasselbe 0,832 und erreichte bei der ausgereiften Pflanze einen Wert von ca. 1,00. Das würde also bedeuten, dass der Fruktosegehalt mit zunehmender Reife der Pflanze ansteigt, bzw. der Glucosegehalt abnimmt. Ebenfalls bei *Sorghum saccharatum* wurden von G. HERMANN (26) in Zeitabständen von 14 Tagen bei den sich entwickelnden Pflanzen Analysen über den Gehalt an reduzierenden Zuckern, bzw. Invertzuckern durchgeführt. Er fand, dass der Gesamtzucker zur Zeit der Befruchtung ein Maximum erreicht und bis zur Fruchtreife wieder zurückgeht. Die junge Pflanze ist reich an Glucose und arm an Saccharose. Im Laufe der Entwicklung nimmt der Glucosegehalt ständig ab, während der Saccharosegehalt steigt. Letzteres konnte ebenfalls von H. TAKEHANA und N. OGURA (82) bestätigt werden.

Chemische Analysen von Hirsesäften liegen mehrere vor (Tabelle 1a). Sie bestätigen durchwegs das Vorhandensein von Saccharose, Glucose und Fruktose (12,15,83,16,13). E. EMILIANI (76) erwähnt noch das Auftreten von Pentosanen, T. B. DARKANBAJEV und N. JA. ACHMETOWA (13) sprechen von maltoseähnlichen Zuckern, die im Korn der kasachischen Hirse noch vorhanden sein sollen. Von den

Autor	Hirseart	Analysergebnisse					Sonstiges i. %
		Asche i. %	Protein i. %	Fett i. %	Wasser i. %	Zucker (= Z.) i. %	
(12) Cuculescu 1934	Sorghum saccharatum						
	Samen		12,6	3,28	13,95	reduz. Z. (als Glucose berechnet) 1,06 reduz. Z. (nach Hydrolyse best.) 1,76	wasserlös. Stoffe 4,62
	Stengel					Gesamtz. 17,0; red. Z. 5,2; Saccharose 11,8	wasserlös. Stoffe 32,2
	Sirup				31,8	Gesamtz. 63,8; red. Z. 21,4; Sacch. 42,4	
(15) Emiliani 1939	Sorghum saccharatum					Saccharose, Glucose, Fructose vorh. Gesamtz. gehalt nimmt vom Innern von d. Basalinternodien z. Spitze hin ab, ebenso d. Gehalt an Saccharose	Stärke, Pektin, Gummi
	Saft						
(83) Telegdy Kováts 1941	Sorghum saccharatum					Gesamtz. als reduz. Z. als Invertzucker Invertzucker Saccharose	Gesamtz. als Extraktst. als Äpfelsäure 13,9-22,2 0,1-0,5
	Saft	0,5-0,9	1,4		773-861	9,7-20,3 3,8-6,5 7,4-12,1	
	Sirup	2,0-2,8	2,9-3,6		153-556	37,2-74,8 11,8-54,8 9,6-41,0	43,5-84,1 0,4-0,8
(31) Kühl 1943	Panicum miliaceum					Stickstofffreie Extraktstoffe, wie Stär- ke, Zucker etc.	Rohfaser 0,46 9,5
	Korn (geschält)	0,88	13,06	2,84	9,77	72,99	
	(ungeschält)	3,32	12,7	3,3	13,5	57,68	

Tabelle 1: Chemische Analysen verschiedener Hirsen.

Analysergebnisse							
Autor	Hirseart	Asche i. %	Protein i. %	Fett i. %	Wasser i. %	Zucker (-Z.) i. %	Sonstiges i. %
(8) Berulawa 1950	Setaria italica PB. maxima Alt Korn	1,8	10,86-9,88	2,64-3,84	106-113,9		N-freie Substanzen 74,36-73,09; darunter 53,46-52,77 Stärke u. 1,89-1,21 Cellulose; 1,5-1,65 mg% Nikotinsäure.
(16) Emiliani 1951	Sorghum saccharatum Saft	0,6	Gesamt-N : 0,108 0,05			neben Saccharose ca. $\frac{1}{3}$ Glucose u. Fructose; Pentosane (28,4) bestehend aus 73% Xylose, 10% Arabinose u. kleine Mengen Glucuronsäuren.	
(84) Trepatschew u. Latypow 1952	Setaria italica Korn		13-18	5-8		Zucker 1,5-3	
	Heu	6,3-10,5	5-13	1,7-3,1		Zucker 8-17	Cellulose 24-35
(13) Darkanbajew u. Achmetowa 1957	Pennisetum typhoideum Korn	1,8-4,6	7,0-16,1	1,6-2,88		0,9-2,08 lösl. Z.; 0,08-0,3 reduz. Z.; 0,33-1,27 Saccharose; 0,19-1,02 maltoseähl. Zuckerarten	59,0-79,7 Stärke; 0,72-0,86 Dextrine; 5,51-7,36 Rohfaser.

Tabelle 1⁹ (Fortsetzung): Chemische Analysen verschiedener Hirsen.

Polysacchariden oder ähnlichen Stoffen werden Stärke (15,31,8,13), Cellulose (8), Dextrine (13), Pektine (15) und Gummi (15) erwähnt. Die Polyfruktosane, die die Getreidearten und Futtergräser so wertvoll machen, werden nirgends erwähnt. Nur V. CUCULESCU (12) berichtet, dass mit Äthylalkohol aus einer verdünnten Siruplösung der Zuckerhirse eine klebrige Masse ausgeschieden wird, welche aber noch nicht weiter untersucht worden sei. Ob es sich hier vielleicht um eine Alkoholfällung der höheren Fruktosane handelt, wäre wohl zu bedenken.

B. Eigene Arbeiten: Die Fruktosane der Hirse.

1. Die Gewinnung des Ausgangsmaterials.

Die Arbeit wurde durchgeführt an der einzigen in Deutschland zugelassenen Zuchtsorte "Gießener Goldrispe".

Das Ausgangsmaterial stammte aus den Ernten im Jahre 1961 (= Ernte I) und 1962 (= Ernte II).

Kurz vor der Rispenbildung wurde die Hirse geschnitten und gehäckselt. Je zwei kg der Frischsubstanz wurden mit 6 l 60 %igem Alkohol 1 Stunde im Wasserbad gekocht, um eventuelle Fermentwirkungen auszuschalten. Anschliessend wurde der Alkoholextrakt noch heiss abgepresst und i. V. bei 30-40 °C zu einem dickflüssigen Sirup eingedampft. Dieser Sirup wurde dann mit einer Aufschlämmung von basischem Bleiacetat enteiweisst, das überschüssige Blei bei Ernte I im gleichen Ansatz mit Dinatriumhydrogenphosphat wieder ausgefällt. Bei der Ernte II wurde das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt. Die Niederschläge wurden in beiden Fällen abzentrifugiert und mehrmals gründlich gewaschen bis das Waschwasser mit dem Molisch-Reagenz keine Reaktion mehr zeigte. Die Zentrifugenüberstände und die Waschwässer wurden bei beiden Ernten i.V. zu einem dicken dunkelbraunen Sirup eingengt. Vom Sirup beider Ernten wurde ein aliquoter Teil zur Ermittlung der Ausbeute an Löslichem (in Trockensubstanz = i.Tr.) getrocknet und ausgewogen.

Ergebnis: Tabelle 2

	Tag d. Ernte	Alter der Hirse	Trocken- gewicht d.Hirse	Menge d.extr. Hirse	Ausbeute a. Lösli.i.Tr. (=Rohsubst.
Ernte I	21.7.61	76 Tage	15,8 %	18 kg	438,8 g = 2,9 %
Ernte II	31.7.62	81 Tage	15,4 %	24 kg	288,3 g = 1,2 %

Da der Aschegehalt der Hirse ohnehin schon sehr gross war, war man daran interessiert nicht noch zusätzlich eine Menge Salze in die Rohsubstanz zu bekommen. Die Fällung des überschüssigen Bleis mit Schwefelwasserstoff war deshalb einer Entbleiung mit Dinatriumhydrogenphosphat vorzuziehen, was aus nachstehender Tabelle klar hervorgeht:

Tabelle 3

	Rohsubst.d.Ernte I		Rohsubst.d.Ernte II	
	vor der Enteiweissung	n.d.Enteiweissg.u. Entbleig. m. Phosphat	vor der Enteiweissung	n.d.Enteiweissg. u. Entbleig. m. H_2S
Aschegehalt i. %	19,6 %	39,9 %	20,8 %	35,5 %
Eiweissgehalt i. %	10,4 %	0,3 %	14,1 %	0,4 %
Summe aus Asche- u. Eiweissgehalt i. %	30,0 %	40,2 %	34,9 %	35,9 %
Differenz d. Summen	10,2 %		1,0 %	

Aus den ermittelten Asche- und Eiweissgehalten von enteiweissten und nicht enteiweissten Rohsubstanzen berechnete sich eine Zunahme der Salze um ca. 10 %, wenn das überschüssige Blei mit Dinatriumhydrogenphosphat und nicht mit Schwefelwasserstoff gefällt worden war.

Das Lösliche (= Rohsubstanz) wurde weiter verarbeitet. Die von der Rohsubstanz angefertigten Papierchromatogramme liessen erkennen, dass es sich bei der Hirse um ein Gemisch von Zuckern verschiedenen Polymerisationsgrades handeln muss, da ausser Fruktose, Glucose und

Saccharose auch noch Substanzen vorhanden waren, die einen kleineren R_f -Wert besaßen.

Zum papierchromatographischen Nachweis von Zuckern wurde in allen Fällen Papier der Fa. Schleicher und Schüll 2043 a Mgl verwendet. Es wurde absteigend im Lösungsmittelgemisch nach H. O. A. KOEHN (66) chromatographiert: Isopropanol:Butanon:Dimethylformamid:Wasser = 50:25:5:20. Die Laufzeiten betrugen zwischen 18 und 24 Stunden. Die Sprühreagenzien waren wie folgt:

1. Das Harnstoffreagenz zum Nachweis von Fruktose und Fruktosanen.

Herstellung: 2 g Harnstoff + 10 ml Wasser + 12 ml 84 %ige Phosphorsäure + 40 ml Butanol + 40 ml Methanol werden gemischt.

Entwicklung bei 110 °C, ca. 5-8 Minuten.

2. Saurer Anilinphthalat zum Nachweis von Aldosen.

Herstellung: 1,66 g Phthalsäure + 0,93 g Anilin + 100 ml wassergesättigtes Butanol werden gemischt.

Entwicklung bei 110 °C, ca. 8 Minuten.

Saccharose, Raffinose, Fruktose und Glucose wurden als Vergleichssubstanzen bei jedem Versuch mitaufgetragen.

2. Übersicht über den Gang der Aufarbeitung des Rohmaterials.

Aus dem Zuckergemisch des Hirse-Rohextraktes sollten die Oligosaccharide und Polyfruktosane isoliert werden. Dazu musste das Gemisch in seine Komponenten zerlegt werden. Dies war erst durch geschickte Kombination verschiedenster Trennungsvorgänge möglich geworden. Eine Übersicht über deren Verwendung im Gang der Aufarbeitung des Analysenmaterials, die bei den einzelnen Versuchen eingesetzten Substanzmengen und die Ausbeuten vermitteln die Zusammenstellungen (Übersicht 2,3, 3/4) am Schluss der Arbeit.

3. Die verschiedenen Trennungsversuche.

a. Abtrennung der Mono-, Disaccharide und Salze mit Hilfe einer Kohle-Celite-Säule und Wasser als Elutionsmittel.

Wie aus dem Papierchromatogramm und den ermittelten Aschegehalten hervorging, enthielt das zu analysierende Zuckergemisch viele Monosaccharide (Glucose, Fruktose), Disaccharide in Form von Saccharose und einen grossen Teil anorganischer Salze. Zur Entfernung dieser nicht wünschenswerter Bestandteile wurden die Rohsubstanzen beider Ernten in wenig Wasser wieder gelöst und in zwei getrennten Versuchen auf Kohle-Celite-Säulen aufgebracht. Für die Füllung der Säulen wurden 500 g Kohle (Carbo activatus puriss. 2184 d. Fa. Merck, Darmstadt) und 500 g Celite (Celite 535 d. Fa. Johns-Manville & Co., New York, N.Y.) in 5 l dest. Wasser gut gemischt, abgesaugt, wiederum in Wasser aufgeschlämmt und nochmals gewaschen. Dieser Arbeitsgang wurde 5 mal wiederholt. Nach dem letzten Absaugen wurde das Kohle-Celite-Gemisch in 3 l Wasser aufgeschlämmt und in eine 150 x 6 cm grosse Glassäule eingefüllt, die unten mit einem Hahn versehen war. Am unteren Ende war die Säule durch einen Wattestopfen verschlossen. Man liess das Kohle-Celite-Gemisch gut absitzen, spülte noch 2 Tage lang mit dest. Wasser durch und die Säule war betriebsfertig.

Nach dem Einsickern der enteilweissten Rohsubstanz wurde die Säule mit dest. Wasser so lange eluiert bis das Eluat keine positive Molisch-Reaktion mehr zeigte. Die Eluate, die die Mono-, Disaccharide und Salze des aufgetragenen Fruktosangemisches enthielten, wurden eingengt, getrocknet und ausgewogen.

Die chromatographische Prüfung des Trockenrückstandes wies nur Fruktose, Glucose und Saccharose auf und war frei von Oligosacchariden und Polyfruktosanen. Auf die

Zusammensetzung des Trockenrückstandes, wie auch auf die genaue Identifizierung der Mono- und Disaccharide wird später eingegangen.

Die Oligosaccharide und Polyfruktosane bleiben hierbei auf der Kohle sitzen. Zur Rückgewinnung derselben wurde der Säulinhalt ausgestossen und mit 40, 50 und 60 %igem Alkohol extrahiert. Die Alkoholextrakte wurden eingeengt, getrocknet und ausgewogen. Die chromatographische Prüfung dieser Extrakte zeigte neben Spuren von Saccharose einen langen Fleck von der Startlinie bis zur Saccharose hin. Daraus konnte man wiederum auf eine Mischung niedermolekularer bis hochpolymerisierter Fruktosane schliessen.

Ergebnis:

Von der Ernte I wurden 435, 0 g Rohsubstanz auf die Kohle-Celite-Säule gebracht.

Die Ausbeute setzte sich folgendermassen zusammen:

Mono-, Disaccharide u. Salze	382,9 g	
Fruchtosane (oligosacch. u. Polyfr.),	32,5 g	= 7,4 %
verunreinigt mit Saccharose		
	Sa. 415,4 g	= 95,5 %

Die Ausbeute betrug somit 95,5 %, der Substanzverlust 4,5 %.

Von der Ernte II wurden 285,3 g Rohsubstanz eingesetzt.

Die Ausbeute hatte folgende Zusammensetzung:

Mono-, Disaccharide u. Salze	255,9 g	
Fruchtosane (oligosacch. u. Polyfr.),	17,8 g	= 6,2 %
verunreinigt mit Saccharose		
	Sa. 273,7 g	= 94,9 %

Die Ausbeute betrug somit für die Ernte II 94,9 % der eingesetzten Menge, Verlust 5,1 %.

b. Weitere Auftrennung des Rohmaterials in Polyfruktosane und Oligosaccharide an einer Kohle-Celite-Säule mit Alkohol steigender Konzentration als Elutionsmittel.

30,0 g des von Mono-, Disacchariden und Salzen befreiten Fruktosangemisches der Ernte I wurden auf einer Kohle-Celite-Säule nach einem etwas modifizierten Verfahren von R. L. WHISTLER und D. F. DURSO (87) mit kontinuierlich steigender Alkoholkonzentration einer Trennung unterworfen.

Zur Erreichung einer kontinuierlich steigenden Alkoholkonzentration wurden 2 Flaschen mit je 10 l so hintereinander geschaltet, dass in die untere nur so viel aus der oberen nachlief, wie aus der unteren auslief. Für eine Durchmischung des Alkohols in der unteren Flasche sorgte ein Rührmotor, der über eine Uhr geschaltet, pro Stunde 5 Minuten lang rotierte.

1. Die untere Flasche enthielt 3 l dest. Wasser.
2. Die obere Flasche wurde mit 3 l 25 %igem Alkohol gefüllt. War dieser verbraucht, wurde die obere Flasche mit 3 l 33 %igem Alkohol gefüllt, war dieser wiederum verbraucht, so wurden 3 l eines 45 %igen Alkohols eingefüllt. Danach folgten noch 60 und 75 %iger Alkohol.

Die Tropfgeschwindigkeit betrug ca. 30 ml pro Stunde. Mit steigender Alkoholkonzentration verlangsamte sich dieselbe. Eine Trennung dauerte ca. 6 Wochen.

Die Eluate wurden in Gläsern zu jeweils 20-30 ml in einem Fraktionssammler aufgefangen. Von jedem der 680 Gläser wurde der Drehwert ermittelt und ein Chromatogramm hergestellt. Gläser gleichen Inhalts wurden daraufhin zusammengeschüttet. So konnten die zahlreichen Einzelfraktionen zu 26 Hauptfraktionen zusammengefasst werden. Von jeder Hauptfraktion wurde nochmals ein Chromatogramm gemacht (Übersicht 5).

Die ersten 100 Einzelfraktionen enthielten nur Saccha-

rose im Gesamtgewicht von 10,5 g. In den nachfolgenden Einzelfractionen traten neben Saccharose noch weitere Zucker in Erscheinung. Wie aus der Übersicht 5 zu ersehen ist, war bei dieser Art der Trennung nur eine teilweise Abtrennung der höher polymerisierten Fruktosane erfolgt, während die Oligosaccharide in Gruppen nacheinander eluiert worden waren. Die Trennung hatte somit nicht ganz den erwünschten Erfolg.

Um einen ersten Überblick über den Glucosegehalt der einzelnen Fractionen und insbesondere über die Kettenlänge der hohen Fruktosane zu erhalten, wurde von jeder der 26 Hauptfractionen der Glucosewert enzymatisch bestimmt (Reagenz zur enzymatischen Bestimmung der "wahren Glucose" - Farbstest nach Boehringer, Mannheim). Aus ihm lässt sich der Polymerisationsgrad berechnen, wenn man annimmt, dass die Transfruktosidierung auf der Fruktosehälfte der Saccharose stattfindet; das gesamte Molekül enthält also nur 1 Molekel Glucose.

Der Polymerisationsgrad errechnet sich dann wie folgt:

$$P = \frac{100}{\text{Glucosegehalt (\%)}}$$

Ergebnis:

Die Zusammensetzung der Ausbeute:

Hauptfractionen	Menge (g)	spez. Drehg.	Glucosewert
reine Saccharose	10,5000 g		
1. Hauptfraction	0,2882	+10,7 °	17,1 %
2. "	1,1138	- 9,6	13,7
3. "	0,3611	- 5,1	11,3
4. "	0,4022	+ 4,9	6,6
5. "	0,3794	o	4,7
6. "	0,3441	+ 22,9	5,8

Hauptfraktionen	Menge (g)	spez. Drehg.	Glucosewert
7. Hauptfraktion	0,2259 g	+ 9,7 °	9,6 %
8. "	0,4632	+ 9,2	8,2
9. "	0,6828	+42,1	13,8
10. "	0,2255	+25,0	11,5
11. "	0,2220	+14,4	10,1
12. "	0,4820	°	7,4
13. "	0,1774	- 4,3	7,6
14. "	0,0799	-14,5	8,3
15. "	0,0343	-15,0	11,1
16. "	0,0677	-10,3	10,2
17. "	0,0686	-14,7	9,8
18. "	0,0900	- 9,8	9,5
19. "	0,0950	-13,9	7,7
20. "	0,0440	-18,2	8,7
21. "	0,2782	-20,0	9,2
22. "	0,2442	-28,8	9,1
23. "	0,9199	-22,8	8,7
24. "	0,1492	-23,9	8,1
25. "	0,2261	-26,7	8,0
26. "	0,1286	-24,7	4,3

Sa. 18,3 g = 61,0 %

Die Ausbeute betrug somit 61,0 % der eingesetzten Menge. Der Anteil an Oligosacchariden und Polyfruktosanen macht 7,8 g aus, das entspricht 26,0 % der eingesetzten Menge.

Mit steigenden Fraktionsnummern wird die spezifische Drehung negativer, d.h. der Anteil an hochpolymeren Polyfruktosanen nimmt zu. Gleichzeitig müsste jedoch der Glucosewert kleiner werden, was aber nach obiger Tabelle nicht der Fall ist. Diese Diskrepanz findet ihre Erklärung im Vorhandensein von Saccharose, womit selbst die höchsten Fraktionen noch verunreinigt waren.

c. Abtrennung der Oligosaccharide von den Polyfruktosanen mit Hilfe einer Sephadex-Säule und Wasser.

1. Da die Drehwerte der hochpolymeren Fruktosane aus der Kohle-Celite-Säule nicht sehr tief lagen, lag der Schluss

nahe, dass die einzelnen Hauptfraktionen keine einheitlichen Verbindungen darstellten. Eine bessere Trennung wurde mit Hilfe einer Sephadex-Säule nach einem Verfahren von H. H. SCHLUBACH und M. GREHN (50) erzielt. Für die Füllung der Säule wurde Sephadexpulver (Sephadex G-25 fine for gel filtration d. Fa. Pharmacia Uppsala Sweden) in Wasser aufgeschlämmt, wobei es sich auf das Dreifache seines ursprünglichen Volumens vergrösserte. Nachdem das Sephadexgel mehrfach mit dest. Wasser gewaschen worden war, wurde dasselbe in eine 75x4 cm grosse Säule eingefüllt. Man liess die Nacht über absitzen, spülte noch einen Tag lang mit dest. Wasser nach und die Säule war betriebsfertig. Das untere Ende derselben war mit etwas Glaswolle und Glasperlen verstopft. Der Hahn wurde so eingestellt, dass 20 ccm Flüssigkeit pro Stunde heraustropfte. Eine Trennung dauerte ca. 30 Stunden.

Auf eine solche Säule wurden 17,0 g eines Fruktosangemisches der Ernte II in wässriger Form aufgetragen. Nach dem Einsickern wurde die Säule mit dest. Wasser so lange eluiert bis die Molisch-Reaktion des Eluats negativ ausfiel.

Im Eluat erschienen zuerst die hochmolekularen Fruktosane, später erst die Oligosaccharide. Die Eluate wurden mit einem sich kontinuierlich drehenden Fraktions-sammler mit einstellbaren Zeitintervallen aufgefangen. Jedes Glas beinhaltete 10,5 ml. Das Zeitintervall von Glas zu Glas betrug 35 Minuten.

Es wurden 52 Einzelfraktionen erhalten, von denen jeweils ein Chromatogramm gemacht (Übersicht 6) und von den ersten 6 auch die spezifische Drehung ermittelt wurde. Auf Grund der Drehwerte und Chromatogramme wurden die Einzelfraktionen zu drei Hauptfraktionen zusammengefasst. Die tieferen Drehwerte der hohen Fruktosane deuteten auf einen relativ hohen Reinheitsgrad der entsprechenden Fraktionen hin.

Ergebnis:

Die Ausbeute hatte folgende Zusammensetzung:

Hauptfraktionen	Einzelfrakt.	Menge (g)	spez. Drehg.
Hauptfraktion I	1.	0,0386	- 40,9 °
	2.	0,1237	- 43,0
	3.	0,1686	- 27,6
	4.	0,1886	- 20,3
Hauptfraktion II	5.	0,1832	- 15,6
	6.	0,1902	- 10,1
	7.-12.	1,4280	nicht ermittelt
Hauptfraktion III	13.-52.	13,1	"

$$\text{Sa. } 15,4209 = 90,6 \%$$

Die Ausbeute betrug also 90,6 % der eingesetzten Menge.

Die Hauptfraktion I (0,1623 g) bestand aus hohen Polyfruktosanen.

Die Hauptfraktion II (1,99 g) bestand aus hohen Polyfruktosanen, verunreinigt m. Penta- u. Tetrasacchariden.

Die Hauptfraktion III (13,1 g) bestand aus Oligosacch., besonders Trisacchariden und Saccharose.

2. Da die Abtrennung der hohen Fruktosane mit Hilfe einer Sephadex-Säule eine befriedigende war, und die Polyfruktosane aus der Kohle-Celite-Säule nicht rein

zu sein schienen, wurden die Hauptfraktionen 21-26 zusammen mit 1,1 g hoher Fruktosane aus einer Hirseaufarbeitung aus dem Jahre 1960 ebenfalls über eine Sephadex-Säule geschickt. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei c1.

Es wurden 22 Einzelfraktionen erhalten. Auf Grund der hergestellten Chromatogramme und der Drehwerte der ersten 8 Fraktionen konnten sie zu 2 Hauptfraktionen vereinigt werden.

Ergebnis:

Hauptfraktionen	Einzelfrakt.	Menge (g)	Drehwert
Hauptfraktion I	1.	0,0183	- 41,6
	2.	0,0402	- 39,5
	3.	0,0704	- 40,6
	4.	0,1035	- 43,4
	5.	0,1365	- 16,5
Hauptfraktion II	6.	0,1392	- 14,5
	7.	0,1275	- 4,6
	8.	0,1187	+ 3,3
	9.-22.	2,1700	nicht ermittelt

$$\text{Sa. } 2,9243 = 90,5 \%$$

Die Ausbeute betrug 90,5 % der eingesetzten Substanzmenge.

Die Hauptfraktion I (0,2324 g) bestand aus hohen Fruktosanen.

Die Hauptfraktion II (2,6919 g) bestand aus wenig hohen Fruktosanen, in der Hauptsache aus Penta- und Tetrasacchariden.

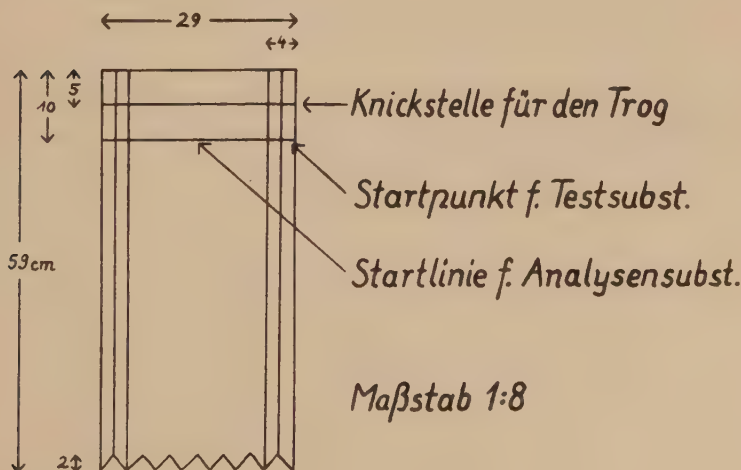
d. Feintrennung der über die Kohle-Celite-Säule und über die Sephadex-Säule erhaltenen Oligosaccharid-Fractionen auf Papierbögen.

Da über die Kohle-Celite-Säule und Sephadex-Säule keine Auftrennung der Oligosaccharide erreicht werden konnte, gleichzeitig aber das Lösungsmittelgemisch Isopropanol: Butanon: Dimethylformamid: Wasser = 50:25:5:20 einen günstigen Trenneffekt von der Saccharose bis zu den Pentasacchariden zeigte, musste die Feintrennung der Oligosaccharide über Papier geschehen. Durch Vorversuche war festgestellt worden, dass eine 15 %ige Lösung der Zucker noch genügend scharf in die einzelnen Komponenten zerlegt wurde.

Die R_S -Werte der Flecken waren, ausser Glucose, Fruktose und Saccharose: 0,33; 0,54; 0,64; 0,76; 1,4; 2,0. Unter R_S -Wert versteht man den Quotient aus R_F -Zucker und R_F -Saccharose, wobei R_S für Saccharose 1,00 gesetzt wird.

Papiersorte: Schleicher & Schüll 2043 a Mgl.

Masse des Chromatogramms in cm:



Lösungsmittelgemisch:

Isopropanol:Butanon:Dimethylformamid:Wasser =
50 : 25 5 : 20

Laufzeit: 18-24 Stunden

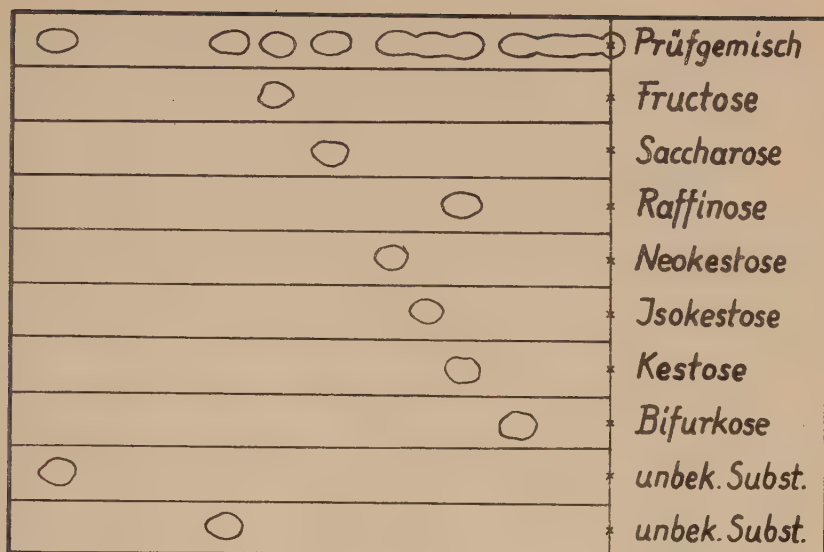
Entwickler: Harnstoff-Reagenz

Zum besseren Abtropfen des Lösungsmittelgemisches wurden an der Unterseite der Bögen ca. 2 cm tiefe Zacken ausgeschnitten.

0,2 ml einer 15 %igen Analysensubstanz wurden 10 cm vom oberen Rand entfernt in einem 3-5 mm breiten Streifen mit einer feinen Pipette aufgetragen und absteigend chromatographiert. Nach dem Trocknen der Bögen bei 50 °C wurden zur Lokalisierung der Zucker vom linken und rechten Rand jeweils 4 cm in Form eines Streifens abgeschnitten (2 cm mit Testsubstanzen und 2 cm mit Analysengemisch). Diese Papierstreifen wurden mit Harnstoff-Reagenz angesprüht und bei 110 °C entwickelt. Die einzelnen Zonen wurden auf dem Bogen angezeichnet und die Streifen mit demselben R_F -Wert ausgeschnitten und mit dest. Wasser eluiert bis zur negativen Molisch-Reaktion.

Die Eluate wurden i.V. bis zur Trockne eingeengt und über P_2O_5 im Exsiccator an der Ölpumpe getrocknet.

Auf diese Weise konnten so vier chromatographisch reine Zucker gewonnen werden.



Chromatogramm der vier isolierten Zucker, verglichen mit dem Ausgangsgemisch.

Lösungsmittelsystem: Isopropanol:Methyläthylketon:Dimethylformamid:Wasser = 50:25:5:20.

Entwickler: Harnstoff-Reagenz

Laufzeit: 20 Stunden

Die Substanzen, die aus der Ernte I isoliert werden konnten, hatten folgende Daten:

	Substanz 1	Substanz 2	Substanz 3	Substanz 4
Menge (g)	0,0300	0,1502	0,3430	0,0160
R _S -Wert	0,33	0,64-0,65	0,54	0,77
Drehwert	+9,0°	+28,8°	+26,4°	+20,9°
Glucosewert(%)	22,9	32,1	31,9	nicht ermittelt
Name des Zuckers	Bifurkose	Isokestose	Kestose	Neokestose

Die isolierten Substanzen aus der Ernte II waren charakterisiert wie folgt:

	Substanz 1	Substanz 2	Substanz 3	Substanz 4
Menge (g)	0,0121	nicht vorhanden od. so spärlich, dass es auf d. Chr. nicht in Erscheinung trat.	0,6050	0,4606
R _S -Wert	0,34		0,54	0,76
Drehwert	+8,8°		+26,8°	+21,6°
Glucosewert(%)	nicht ermittelt		32,5	31,1
Name des Zuckers	Bifurkose	Isokestose	Kestose	Neokestose

In beiden Ernten traten noch zwei unbekannte Substanzen auf, die sich mit dem Harnstoff-Reagenz anfärbten und einen R_S-Wert von 1,4 und 2,0 besaßen.

4. Die Identifizierung der Oligosaccharide.

Die Substanz 1 ist auf Grund des enzymatischen Glucosewertes ein Tetrasaccharid, 2, 3, und 4 sind Trisaccharide. Die Analysenergebnisse deuteten auf vier bereits bekannte Oligosaccharide hin: die Neokestose, die Kestose, die Isokestose und das von H. H. SCHLUBACH und H. O. A. KOEHN im Roggen entdeckte Tetrasaccharid Bifurkose (66).

Ein Vergleich der Analysenergebnisse mit denen der bekannten Zucker bestätigten die Annahme:

	nach Literatur	gefunden
--	----------------	----------

Neokestose: (21,4,68,45)

R _S -Wert	0,76-0,77	0,76
Drehwert	+ 21,6 °	+ 21,6 °
Glucose-Wert	33,3 %	31,1 %

Kestose: (1,72,65,66,68,45,46)

R _S -Wert	0,54	0,54
Drehwert	+ 27,0 °	+ 26,4-26,8 °
Glucose-Wert	33,3 %	31,9-32,5 %

Isokestose: (6,3,65,66)

R _S -Wert	0,64	0,64-0,65
Drehwert	+ 29,3 °	+ 28,8 °
Glucose-Wert	33,3 %	32,1 %

Bifurkose: (66,2,68,45,46)

R _S -Wert	0,36	0,33-0,34
Drehwert	+ 8,0 °	+ 8,8-9,0 °
Glucose-Wert	25,0 %	22,9 %

Bei den vier isolierten Oligosacchariden handelt es sich in der Tat um die Neokestose, Kestose, Isokestose und die Bifurkose.

Die Auffindung der vier Oligosaccharide liess in der Hirse ein recht kompliziertes Gemisch von Polyfruktosanen erwarten.

Drei Möglichkeiten des Aufbaus und der Kettenverlängerung waren zu erwarten:

1. Die Transfruktosidierung auf der Fruktosehälfte der Saccharose, beginnend mit der Kestose oder Isokestose als dem einfachsten Trisaccharid und weiterer Aufbau von Polyfruktosanen mit endständiger Glucose. Bei Verzweigung entsteht das Tetrasaccharid Bifurkose. Die weitere Transfruktosidierung auf der Bifurkose ist nach dem Phlein- oder Inulintyp möglich.

2. Die Transfruktosidierung auf der Glucosehälfte der Saccharose, beginnend mit dem einfachsten Trisaccharid, der Neokestose und weiterer Aufbau von Polyfruktosanen mit Glucose in der Kette.

3. Aufbau einer Difruktose und Bildung von glucosefreien Polyfruktosanen.

Die Bausteinanalyse der hochmolekularen Fruktosane sollte darüber Aufschluss geben, welche der Möglichkeiten des Aufbaus in der Hirse verwirklicht sind.

5. Die Identifizierung von Glucose, Fruktose und Saccharose.

Die Mono-, Disaccharide und Salze wurden aus dem Rohmaterial mit Hilfe einer Kohle-Celite-Säule und Wasser ausgewaschen. In den getrockneten Eluaten wurde auf Grund von Papierchromatogrammen Glucose, Fruktose und Saccharose vermutet. Der exakte Nachweis konnte erst erbracht werden, nachdem das Eluat über Papierbögen in reine Fraktionen getrennt worden war.

Nachweis von Glucose:

	ermittelt	Literaturwert
enzymat. Glucose-Wert	99,1 %	100 %
spez. Drehung	+51,4 °	+52,7 °

Nachweis von Fruktose:

	ermittelt	Literaturwert
spez. Drehung	-91,1 °	-92,3 °
R _S -Wert	1,1-1,2	1,2

Nachweis von Saccharose:

	ermittelt	Literaturwert
spez. Drehung	+64,1 °	+66,5 °
Reduktionswert nach BERTRAND ^{a)} vor d. Hydrolyse	0,05 %	0 %
enzymat. Glucose-Wert	51,3 %	50,0 %

Das Papierchromatogramm zeigte nach der Hydrolyse 2 Flecken.

Sämtliche ermittelten Drehwerte wurden, wenn nicht anders angegeben, in Wasser im 1-dm-Rohr ausgeführt. Die Konzentration betrug 0,1 g/100 ml.

Aus obigem Vergleich geht eindeutig hervor, dass es sich in der Tat bei den Substanzen um Glucose, Fruktose und Saccharose handelt.

^{a)} Quantitative Bestimmung des Reduktionsvermögens von Zuckern nach BERTRAND in TOLLENS-ELSNER: Handbuch der Kohlenhydrate, 4. Aufl. 1953, S.92.

6. Die Zusammensetzung eines enteimissten Hirse-Extraktes.

- a. Mit dem Eluat der Ernte II, das die herausgewaschenen Mono-, Disaccharide und Salze enthielt, wurden folgende Bestimmungen durchgeführt:

Enzymat. Glucosewert vor der Hydrolyse	4,2 %
Bestimmung des Reduktionswertes nach BERTRAND nach d. Hydrolyse	59,7 %
Aldosewert nach der Hydrolyse ^{b)}	31,4 %
Aschegehalt	35,2 %

- b. Die Zusammensetzung des obigen Eluats hat sich wie folgt errechnet:

Aschegehalt	35,2 %
reine Glucose	4,2 %
reine Fruktose.	1,1 %
Saccharose	54,4 %

Sa. 94,4 %

Die restlichen Prozente verteilen sich auf Aminosäuren, Schleimstoffe usw.

- c. Aus a. und b. liess sich ohne Schwierigkeit die Zusammensetzung eines von Eiweiss befreiten Hirse-Extraktes (Ernte II) ermitteln:

Aschegehalt	32,9 %
reine Glucose	6,1 %
reine Fruktose	1,0 %
Saccharose	54,0 %
Polyfruktosane u. Oligosaccharide	3,3 %

Sa. 97,3 %

Die fehlenden Prozente verteilen sich wieder auf Aminosäuren, Schleimstoffe usw.

- b) Bestimmung der Aldosen nach AUERBACH-BODLÄNDER in TOLLENS-ELSNER: Handbuch der Kohlenhydrate, 4. Aufl. 1935.

7. Die Polyfruktosane der Hirse, Ergebnis der Methylierungsanalyse.

Zur Konstitutionsermittlung wurden 251,6 mg des Zuckers nach dem Verfahren von R. KUHN, H. TRISCHMANN und J. LÖW (32) in Dimethylformamid mit Methyljodid und Silberoxid permethyliert.

Von dem erhaltenen Methylzucker wurde ein IR-Spektrum (KBr-Spektrum) angefertigt zur Kontrolle auf eventuell noch vorhandene, nicht methylierte OH-Gruppen ^{c)}. Anschliessend wurde der Methylzucker mit alkoholischer Oxalsäure nach W. N. HAWORTH und A. LEARNER (24) und darauf zur Nachspaltung eventuell gebildeter Fruktoside mit 0,25 %iger Salzsäure gespalten.

Nach Entfernung der Säure wurden die erhaltenen Spaltprodukte in Chloroform aufgenommen und an einer Silica-gelsäule nach H. H. SCHLUBACH und A. HEESCH getrennt (55).

Man erhält beim Eluieren mit Chloroform die Tetramethyl-, mit Chloroform : Butanol (19:1) die Trimethyl- und mit Methanol die Dimethylfraktionen.

Ergebnis:

Einwaage für die Methylierung 251,6 mg

Drehung des nicht methylierten Zuckers $[\alpha]^{20}_D = -39,6^\circ$

Glucosewert d. nicht methyl. Zuckers 6,8 %

Polymerisationsgrad (ber.aus d. Glucosewert) 14,7

Methylverbindung 289,4 mg

IR-Spektrum: es waren keine OH-Gruppen mehr zu erkennen.

Drehung der Methylverbindung $[\alpha]^{20}_D = -43,1^\circ$

Zur Spaltung wurden gegeben 285,1 mg

Spaltprodukte 265,7 mg

Auftrennung der Spaltprodukte an einer Silicagelsäule:

Tetramethylfraktion	64,35 mg
Trimethylfraktion	155,03 mg
Dimethylfraktion	28,93 mg

Sa. 248,31 mg,

das entspricht einer Ausbeute von 93,4 %

auf Fruktose umgerechnet:

Tetramethylfraktion	49,08
Trimethylfraktion	125,70
Dimethylfraktion	25,04

Das ergibt ein molares Verhältnis von Tetra:Tri:Di =
1,96 : 5,02 : 1 oder abgerundet 2:5:1 oder ein Vielfaches davon.

Die einzelnen Fraktionen zeigten folgende Werte:

Tetramethylfraktion:	Drehung +43,4°, Aldosewert: 23,8 %
Trimethylfraktion:	Drehung -50,4°, Aldosewert: 0,9 %
Dimethylfraktion:	Drehung -51,7°, Aldosewert: 2,4 %

Danach ergibt sich folgende Identifizierung:

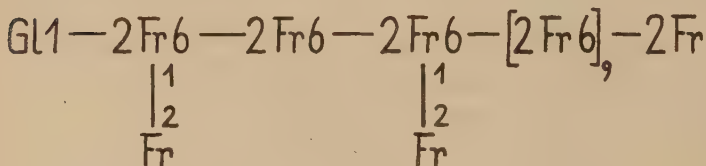
Tetra-Fraktion: Mischung von 2,3,4,6-Tetramethylglucose
und 1,3,4,6-Tetramethylfruktose, im Ver-
hältnis von 1:3

Tri-Fraktion: reine 1,3,4-Trimethylfruktose

Di-Fraktion: reine 3,4-Dimethylfruktose

Folgerungen aus dem Ergebnis der Methylierung:

Der folgende Strukturvorschlag für das Polyfruktosan
wird den analytischen Daten am besten gerecht:



c) Frl. Poppe aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie,
München sei herzlich bedankt für das Anfertigen des
IR-Spektrums.

Aus diesem Modell würden sich folgende Daten ergeben,
die nachstehend mit den gefundenen verglichen werden:

	berechnet	gefunden
Glucosewert d. unmethyl. Zuckers	6,2 %	6,8 %
Polymerisationsgrad a. dem Glucosewert errechnet	16,1	14,7
Polymerisationsgrad a. den Spaltprodukten errechnet	16	16
Drehung der Methylverbindung	-	-43,1°
Tetra : Tri : Di -Spaltprodukte	4 : 10 : 2	2:5:1 od. ein Vielfaches

Tetramethyl-Fraktion:

Drehung:	+44,5°	+43,4°
Aldosewert:	25,0 %	23,8 %

wobei die Drehung der reinen

2,3,4,6 - Tetramethylglucose +83,3°

1,3,4,6 - Tetramethylfructose +31,3°

beträgt.

Trimethyl-Fraktion:

Drehung:	-51,8°	-50,4°
Aldosewert:	0 %	0,9 %

Die 1,3,4 - Trimethylfructose konnte kristallisiert erhalten werden.

Dimethyl-Fraktion:

Drehung:	-	-51,7°
Aldosewert:	0 %	2,4 %

wobei die Drehung der reinen

3,4 - Dimethylfructose -60,6°

3,4 - Dimethylglucose +94,8° beträgt.

Aus der Drehung der Trimethylfraktion geht eindeutig

hervor, dass das hier vorliegende Polyfruktosan nach dem Phleintyp gebaut ist. Die reine 1,3,4 - Trimethylfruktose dreht $-51,8^{\circ}$ (33) und kann nur bei 2-6 -Bindung, die dem Phleintyp entspricht, gebildet werden. Die 3,4,6 - Trimethylfruktose mit einer Drehung von $+27,7^{\circ}$ (33) nur dann, wenn eine 1-2 -Bindung des Inulintyps vorliegt. Die ermittelte Drehung der Trimethylfraktion von $-50,4^{\circ}$ stimmt gut innerhalb der Fehlergrenze mit dem Literaturwert überein. Der Literaturwert für die Drehung der 3,4 - Dimethylfruktose liegt bei $-60,6^{\circ}$ (33). Die langjährigen Erfahrungen von H. H. SCHLUBACH und Mitarbeiter konnten diesen Wert nicht bestätigen. Es wurde durchwegs die spezifische Drehung von $-47,7$ bis $-51,9^{\circ}$ gefunden (51,52,53,66,68). Der Aldosewert von 2,4 % der Dimethylfraktion liegt innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmungsmethode und sagt somit nichts aus.

Das Verhältnis der Tetra- : Tri- : Dimethylfraktion weist auf eine sehr geringe Verzweigung hin, die im vorliegenden Fall eine zweifache ist. Anzunehmen ist die Verzweigung am Anfang der Kette, da unter den Oligosacchariden der Hirse die Bifurkose, das Tetrasaccharid mit einer Verzweigung, auf das später noch näher eingegangen wird, gefunden wurde. Die erste Verzweigung beginnt bereits am Fruktoseteil der der Kette zugrundeliegenden Saccharose. An welcher Stelle die zweite Verzweigung ansetzt, kann nicht gesagt werden.

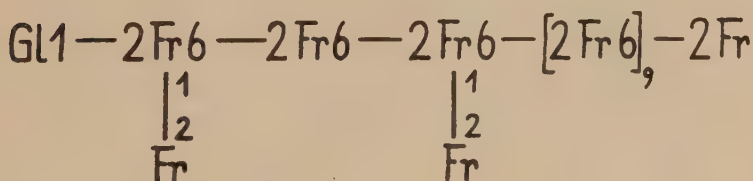
Das isolierte Polyfruktosan stimmt in seiner Struktur mit dem Modell überein. Es handelt sich also um ein zweifach verzweigtes, auf Saccharose aufgebautes Polyfruktosan, das nach dem Phleintyp gebaut ist und den Polymerisationsgrad 16 besitzt.

C. Diskussion der Ergebnisse.

Aus den analytischen Ergebnissen der Zusammensetzung des in der Rispenhirse enthaltenen Gemisches von Oligo- und Polysacchariden lässt sich folgendes Bild ihrer Biogenese gewinnen:

Die Transfruktosidierung geschieht auf der Fruktosehälfte der Saccharose und zwar an deren 6. Hydroxylgruppe unter Bildung der Kestose. Aus der Kestose kann unter Transfruktosidierung an der 1. Hydroxylgruppe des mittleren Fruktosegliedes unter gleichzeitiger Verzweigung die Bifurkose entstehen. Die Bifurkose wächst dann durch weitere Transfruktosidierung an der 6. Hydroxylgruppe der endständigen Fruktosemolekel unter Wiederholung der Verzweigung zu einem Polysaccharid der Phleierreihe mit maximal 15 Fruktosegliedern an. Die Glucose bleibt immer endständig.

Das isolierte Polyfruktosan hat also folgende Struktur:



In ihrer Gesamtstruktur nehmen die Polyfruktosane der Rispenhirse eine Zwischenstellung ein zwischen denen der Futtergräser und denen des Hafers. Sie unterscheiden sich von den ersteren durch eine geringe Verzweigung, da die Polyfruktosane der Futtergräser (42) unverzweigt sind ($\text{Gl1}-2\text{Fr6}-(2\text{Fr6})_n-2\text{Fr}$, wobei $n = 15-50$). In dieser Hinsicht nähern sie sich den Polyfruktosanen des Hafers (74,54,45), die ebenfalls 1-2 mal verzweigt sind. Hingegen weisen die Polyfruktosane des Roggens

(30,33,39,40,53,57), der Gerste (78,52) und des Weizens (60,75) eine höhere Anzahl von Verzweigungen auf. Mit Recht wird bei der Rispenhirse die erste Verzweigung am Fruktoseteil der Saccharose angenommen, da das von H. O. A. KOEHN im Roggen (66) entdeckte Tetrasaccharid Bifurkose auch aus der Hirse isoliert werden konnte. G. O. ASPINALL und P. C. DAS GUPTA (2) stellen die Bedeutung dieses Tetrasaccharids ebenfalls heraus und geben ihrem aus *Agave vera cruz* isolierten verzweigten Polyfruktosan eine Struktur, die bereits am Fruktosemolekül der Saccharose die erste Verzweigung besitzt. Dies steht allerdings im Gegensatz zu R. MONTGOMERY und F. SMITH (34), die annehmen, dass die Verzweigung bei ihrem aus dem Endosperm des Weizens isolierten Glucofruktan (Octasaccharid) erst am dritten Hexosenbaustein ansetzt.

Nach H. O. A. KOEHN (66) gehört dieses Tetrasaccharid zwei polymerhomologen Reihen an, der Phlein- und Inulinreihe, da Phlein- wie auch Inulinbindungen im gleichen Verhältnis vorliegen. In der Rispenhirse, im Hafer und in den untersuchten Futtergräsern werden nur Phleine, d.h. Polyfruktosane des Phleintyps gebildet. Im Roggen, im Weizen und in der Gerste konnten Vertreter beider polymerhomologer Reihen gefunden werden. Dass dieses Tetrasaccharid im Hirsematerial aufgefunden wurde, ist ein Beweis dafür, dass der Aufbau der Kohlenhydrate in der Rispenhirse grundsätzlich auf die gleiche Art erfolgt wie beim Roggen (66), Weizen (68), Hafer (45) und bei der Gerste (46).

Weitere Zwischenglieder dieser polymerhomologen Reihe zu isolieren, wie dies von F. LEDERER im Weizen (68) in Form eines Penta-, Octa- und Dodecasaccharids geschah, war bei der Hirse leider nicht möglich. Glucosefreie Polyfruktosane, wobei die Transfruktosidierung auf einer leider noch nicht isolierten Difruktose stattfindet, wie sie bei den Futtergräsern, so z.B. bei

Lolium perenne (72,42) und im Roggen (65,43) in Form von Tetra- und Pentafruktosanen aufgefunden werden konnten, gibt es in der Hirse nicht.

Das Trisaccharid Neokestose entsteht bei der Transfruktosidierung auf dem Glucoseteil der Saccharose. Sie wurde erstmals unter den Getreidearten von F. LEDERER im Weizen (68) entdeckt. Mit dem Nachweis der Neokestose war ein weiteres Aufbauprinzip für die Polyfruktosane in der Rispenhirse wahrscheinlich gemacht. Die Methylierungsanalyse der aus der Hirse isolierten Polyfruktosane ergab jedoch, dass eine Kettenverlängerung auf der Neokestose nicht stattfindet. Hierin unterscheidet sich die Rispenhirse vom Hafer und Weizen, wo nachgewiesen werden konnte, dass die Neokestose, wenn auch nur in geringem Masse zum Aufbau von Polyfruktosanen verwendet wird. Auch bei *Lolium multiflorum* (73) soll der Aufbau teilweise auf der Neokestose stattfinden.

Hinsichtlich der den Aufbau bewirkenden Enzyme (71,70,56) ist eine weitgehende Ähnlichkeit zum Hafer und zu den Futtergräsern festzustellen. In der Hirse ist gleichfalls nur die Phlelnase anzunehmen, wie aus der Transfruktosidierung allein auf der 6. Hydroxylgruppe der Fruktose hervorgeht (42,45). Beim Roggen, Weizen und bei der Gerste mit ihren Bindungen über die erste Hydroxylgruppe überwiegt die Inulase.

Das Auftreten der Bifurkose mit ihren 1-2 -Bindungen beweist allerdings, dass in der Rispenhirse auch die Inulase, wenn auch nur spärlich anzunehmen ist.

Bei der Ermittlung der prozentualen Zusammensetzung eines enteiwaissten Hirse-Rohextraktes fiel die geringe Menge an Polyfruktosanen und Oligosacchariden auf. Sie errechnete sich zu 3,3 % des Löslichen i. Tr. Dem sei der sehr hohe Anteil von 92,2 % bei *Lolium perenne* (42), von 22,9 % im Hafer (45) und von 29,0 % im Weizen (68) gegenübergestellt. Dagegen ist der Saccharoseanteil in der Rispenhirse mit 54,0 % recht hoch. Ganz allgemein

kann daraus geschlossen werden, dass bei der Hirse die Tendenz zur Bildung von Polyfruktosanen recht gering ist und die Polymerisation vorwiegend auf der Stufe der Saccharose stehen bleibt. Darin gleicht die Rispenhirse dem Reis (80), bei dem sich in keinem Zeitpunkt während einer ganzen Vegetationsperiode die Bildung von Oligosacchariden und Polyfruktosanen feststellen liess. Es wird deshalb angenommen, dass die Polyfruktosanen im Reis völlig fehlen, in der Hirse jedoch spärlich vorhanden sind. Es bleibt allerdings die Frage offen, ob vielleicht der Zeitpunkt des Schnittes bei der Hirse nicht günstig gewählt war. Nach den Untersuchungen an den verschiedenen Getreidearten konnte festgestellt werden, dass im Laufe der Vegetationsperiode ein Anwachsen der höhermolekularen Verbindungen auf Kosten der niederen stattfindet. Das Maximum an Polyfruktosanen lag bei den Getreidearten kurz vor dem Ährenschieben. Der Zeitpunkt des Schnittes bei der Rispenhirse wurde ebenfalls so gelegt.

Es liegt der Schluss nahe, dass die im Laufe der Zeiten zurückgehende Bedeutung der Hirse auf Kosten anderer Getreidearten auch mit auf dem geringen Anteil an Polyfruktosanen beruht, die in der Rispenhirse gebildet werden.

D. Zusammenfassung.

Es wurden die löslichen Kohlenhydrate der Rispenhirse (*Panicum miliaceum* L.) untersucht. Dabei konnten die bekannten Trisaccharide Kestose, Isokestose, Neokestose und das Tetrasaccharid Bifurkose isoliert werden. Von den verschiedenen Möglichkeiten Polyfruktosane aufzubauen, ist in der Rispenhirse nur eine verwirklicht. Durch Transfruktosidierung auf dem Fruktoseteil der Saccharose entsteht die Kestose bzw. Isokestose. Durch weitere Transfruktosidierung werden über das Tetrasaccharid Bifurkose glucosehaltige Polyfruktosane vom Phleintyp aufgebaut. Ein Polyfruktosan dieser polymerhomologen Reihe konnte isoliert und auf Grund der Methylierungsanalyse die Konstitution festgestellt werden. Ganz allgemein ist der Anteil an Polyfruktosanen und Oligosacchariden in der Rispenhirse recht gering; über die Hälfte des Alkoholextraktes bestand aus Saccharose.

E. Literaturangaben.

1. Albon, N., Bell, D.J., Blanchard, P.H., Gross, D. and Rundell, J.T.: Kestose, a Trisaccharid formed from Sucrose by Yeast Invertase. J. Chem. Soc. (Lond.), 4, 24 (1953).
2. Aspinall, G.O. and Das Gupta, P.C.: The Structure of the Fructosan from *Agave vera cruz* Mill. J. Chem. Soc. (Lond.), 143, 718 (1959).
3. Bacon, J.S.D.: The Oligosaccharides Produced by the Action of Yeast Invertase Preparations on Sucrose. Biochem. J. 57, 320 (1954).
4. Bacon, J.S.D.: The Water-Soluble Carbohydrates of the Onion, *Allium cepa* L. Biochem. J. 67, Nr.1, 5P (1957).
5. Barbera, G.: Über den Nährwert der Blätter und anderer Nebenprodukte der Industrie der Zuckerhirse. Ann. Chim. applicata, 31, 109 (1941).
6. Barker, S.A., Bourne, E.J. and Carrington, T.R.: Studies of *Aspergillus niger*. III. The Structure of a Trisaccharide Synthesised from Sucrose. J. Chem. Soc. (Lond.) 5111, 2125 (1954).
7. Bertsch, K. und F.: Geschichte unserer Kulturpflanzen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H., Stuttg. 1947.
8. Berulawa, J.T.: Die Bedeutung der Gomihirse (*Setaria italica* P.B. maxima Alt) für die Ernährung. Hyg. und Sanitätswesen 4, 42 (1950).
9. Boggs, L.A. and Smith, F.: The Constitution of the Glucofructan of the Tuber of the Hawaiian "TI" Plant (*Cordyline terminalis*). J. Am. Soc. 78, 1880 (1956).
10. von Boguslawski, E.: Briefliche Mitteilung an Herrn Prof. Dr. H. H. Schlubach.
11. Chollet, M.M. et Dufour, R.: De la présence de fructosanes chez *Sphagnum palustre* Dill. C. r. 241, 1819 (1955).
12. Cuculescu, V.: Beiträge zur Kenntnis der Zuckerhirse. Analysenergebnisse f. Samen, Stengel u. Sirup daraus. Z. Unters. Lebensmittel 68, 651 (1934).

13. Darkanbajew, T.B. und Achmetowa, N.Ja.: Die biochem. Charakteristik der kasachischen Hirse. Nachr. Akad. Wiss. Kasach. SSR 13, Nr.10, 58 (1957).
14. Mc. Donald, E.J.: The Polyfructosans and Difructose Anhydrides. Adv. Carb. Chem. 2, 253 (1946).
15. Emiliani, E.: Chem. Untersuchungen über Zuckerhirse. Ric. sci. Progr. tecn. Econ. naz. 10, 1131 (1939).
16. Emiliani, E.: Die industrielle Verwertung der Zuckerhirse (*Sorghum saccharatum*). An. Soc. ci. argent. 151, 8 (1951).
17. Escourrou, R.: Gewinnung von Zell- und Papierstoff aus Sorghum-Hirse. F.P. 1131425 vom 10/11. 1954, ausg. 21./2. 1957.
18. FAO Bulletin (Food and Agriculture Organization of United Nations) 1949.
19. Fischer, W.J.: in Lexikon der Naturwissensch., Stuttg. 1953.
20. Freudenberg, K.: Beiträge zur Chemie der Stärke und der Cycloglucane (Schardinger Dextrine). Ang. Ch. 69, 419 (1957).
21. Gross, D., Blanchard, P.H. and Bell, D.J.: Neokestose, a Trisaccharid formed from Sucrose by Yeast Invertase. J. Chem. Soc. (Lond.) 5032, 1727 (1954).
22. Hahn, E.: Der Hirse, seine geographische Verbreitung und seine Bedeutung für die älteste Kultur. Zeitschrift f. Ethnologie 1894.
23. Haworth, W.N., Hirst, E.L. and Lyne R.R.: CIV. A Water-Soluble Polysaccharide from Barley Leaves. Biochem. J. 31, 786 (1937).
24. Haworth, W.N. and Learner, A.: Polysaccharides. Part I. The Structure of Inulin. J. Chem. Soc. (Lond.) 130, 619 (1928).
25. Hayashi, K. und Mizuno, T.: Vorläufige Mitteilung über ein neues kristallines Glucofructan, isoliert aus der Zwiebel von *Lycoris radiata* Herbert. J. agric. chem. Soc. Japan 27, 824 (1954). Ref.Chem.Zentralbl. p. 13742 (1956).

26. Hermann, G.: Über die Entstehung von Zuckern in den Stengeln von *Sorghum saccharatum* Pers. Bull. Sect. sci. Acad. Roum. 24, 455 (1942).
27. Heyns, K.: Die neueren Ergebnisse der Stärkeforschung. Braunschweig 1949.
28. Jeremias, K.: Vortrag auf der Botanikertagung in Karlsruhe, Juni 1962. Ref. i. Naturw. Rdschau 3, 108 (1963).
29. Koblet, R.: Über die Reservestoffbildung in landwirtschaftl. Kulturpflanzen. Experientia 3, 95 (1947).
30. Köszegei, D. und Morvay, J.: *Sorghum* als einheim. Rohstoff für Alkohol und Cellulose. Pflanzenbau 4, 33 (1955).
31. Kühl, H.: Die Hirse. Dtsche Mllerei 55, 1816 (1943).
32. Kuhn, R., Trischmann, H. und Löw, I.: Zur Permethylierung von Zuckern und Glykosiden. Z. angew. Chem. 67, 32 (1955).
33. Micheel, F.: Chemie der Zucker und Polysaccharide. Akad. Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1956.
34. Montgomery, R. and Smith, F.: The Carbohydrates of Gramineae. IX. The Constitution of a Glucofructan of the Endosperm of Wheat (*Triticum vulgare*). J. Amer. Chem. Soc. 79, 446 (1957)
35. Parisi, E.: Die Zuckerhirse. G. Biol. ind., agrar. aliment. 6, 130 (1936).
36. Quillet, M., Joussaume, M. et Chavannes, C.: Sur le métabolisme glucidique des Bryophytes. I. Les Sphaignes nouveau groupe de végétaux à réserve fructosidique. C. r. 242, 669 (1956).
37. Quillet, M.: Sur le métabolisme glucidique des Bryophytes. Présence de polyfructosides dans certains groupes d' Hépatiques. C. r. 242, 2475 (1956).
38. Quillet, M.: Sur le métabolisme glucidique des Hépatiques: Jungermaniales et Marchantiales. C. r. 242, 2656 (1956).

39. Salani, R., Tono, P. und Garagnani, A.: Die Bestimmung des Verhältnisses Fruktose : Glucose in den Sorghumsäften (nach Inversion) während der Entwicklungsperiode d. Pflanze. Ind. saccarif. ital. 32, 217 (1939).
40. Schlubach H. H.: Über den Kohlenhydratstoffwechsel der Getreidearten. *Experientia* 9, 230 (1953).
41. Schlubach, H.H.: Der Kohlenhydratstoffwechsel der Gräser. *Ang. Chem.* 69, 433 (1957).
42. Schlubach, H.H.: Der Kohlenhydratstoffwechsel der Gräser. *Fortschritte der Chemie organ. Naturstoffe.* XV (Wien 1958).
43. Schlubach, H.H.: Der Kohlenhydratstoffwechsel im Roggen und Weizen. *Fortschritte der Chemie organ. Naturstoffe.* XIX (Wien 1961).
44. Schlubach, H.H. und Bandmann, Ch.: Untersuchungen über Fruktoseanhydride XXII. Über das Secalin. A. 540, 285 (1939).
45. Schlubach, H.H. und Berndt, J.: Untersuchungen über Polyfruktosane. LIX. Der Kohlenhydratstoffwechsel im Hafer. A. 647, 41 (1961).
46. Schlubach, H.H., Berndt, J. und Chiemprasert, T.: im Druck 1963.
47. Schlubach, H.H. und Boë, H.: Untersuchungen über Fruktoseanhydride. XIX. Die Konstitution des Asparagosins. A. 532, 191 (1937).
48. Schlubach, H.H. und Gassmann, L.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XXXIV. Über das Poain P. A. 583, 81 (1953).
49. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane. XXXVI. Über das Avenarin F. A. 587, 103 (1954).
50. Schlubach, H.H. und Grehn, M.: im Druck 1963.
51. Schlubach, H.H. und Haberland, E.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XLIX. Über das Graminin III. A. 604, 22 (1957).
52. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane LIII. Über das Kritesin und Hordeacin der Gerste. A. 614, 119 (1958).

53. Schlubach, H.H. und Haberland, E.: Untersuchungen über Polyfruktosane. LIV. Über das Graminin B. A. 614, 123 (1958).
54. Schlubach, H.H. und Hauschildt, P.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XXXI. Über das Aigilopsin. A. 578, 201 (1952).
55. Schlubach, H.H. und Heesch, A.: Quantitative Bestimmung eines Gemisches von Tetramethyl-, Trimethyl- und Dimethylfructosen durch Verteilungschromatographie. A. 572, 114 (1951).
56. Schlubach, H.H., Hohn, G. und Repenning, K.: Untersuchungen über Polyfruktosane. LVI. Zwei Polyfruktosanasen aus *Aspergillus niger*. A. 627, 123 (1959).
57. Schlubach, H.H. und Holzer, K.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XXXIII. Über das Phlein II. Die Invertinspaltung der Polyfruktosane. A. 578, 213 (1952).
58. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane. XXXV. Über das Festucin R. A. 583, 88 (1953).
59. Schlubach, H.H., Holzer, K. und Gassmann, L.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XXXVII. Über das Alopecurin P. A. 587, 107 (1954).
60. Schlubach, H.H. und Huchting, I.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XXV. Über das Pyrosin. A. 561, 173 (1949).
61. Schlubach, H.H. und Ketu Sinh, O.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XXIII. Über das Phlein. Die Ringstruktur der Polyfruktosane. A. 544, 101 (1940).
62. Schlubach, H.H. und Ketu Sinh, O.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XXIV. Die Gruppe der natürlichen Polyfruktosane. A. 544, 111 (1940).
63. Schlubach, H.H. und Knoop, H.: Untersuchungen über natürliche Polylävane. IV. Die Kohlenhydrate der Topinambur. A. 497, 208 (1932).
64. Schlubach, H.H., Knoop, H. und Liu, M.Y.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XII. Die Konstitution des Irisins I. A. 504, 30 (1933).

65. Schlubach, H.H. und Koehn, H.O.A.: Untersuchungen über Polyfruktosane. LI. Die niedermolekularen Kohlenhydrate in *Avena flavescens*. A. 606, 130 (1957).
66. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane. LV. Die Bildung der verzweigten Polyfruktosane in den Roggenhalmen. A. 614, 126 (1958).
67. Schlubach, H.H. und Koenig, K.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XV. Die Konstitution des Graminins I. A. 514, 182 (1934).
68. Schlubach, H.H. und Lederer, F.: Untersuchungen über Polyfruktosane. LVIII. Der Kohlenhydratstoffwechsel im Weizen. A. 635, 154 (1960).
69. Schlubach, H.H. und Loop, W.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XVII. Die Konstitution des Sinistrins. A. 523, 130 (1936).
70. Schlubach, H.H. und Lübbers, H.: Enzymatischer Aufbau von Polysacchariden in Gräsern. Untersuchungen über Polyfruktosane. XL. Angew. Chem. 23, 744 (1954).
71. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane. XLII. Über die Phleine und ihren enzymat. Aufbau. A. 594, 41 (1955).
72. Schlubach, H.H., Lübbers, H. und Borowski, H.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XLIV. Die niedermolekularen Kohlenhydrate in *Lolium perenne*. A. 595, 229 (1955).
73. Schlubach, H.H. und Lübbers, H.: Untersuchungen über Polyfruktosane XLVI. Über die Konstitution des Polyfruktosans in *Lolium multiflorum*. A. 598, 225 (1956).
74. Schlubach, H.H. und Müller, H.: Untersuchungen über Polyfruktosane. XXVII. Über das Avenarin. A. 572, 106 (1951).
75. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane. XXIX. Über das Sitosin. Untersuchungen über Polyfruktosane. XXX. Über das Graminin II. A. 578, 194 (1952).
76. ——— Untersuchungen über Polyfruktosane. XXX. Über das Graminin II. A. 578, 198 (1952).

77. Schlubach, H.H. und Neurath, G.: Untersuchungen über Polyfruktosane. LIII. Polyfruktosanase-Aktivität des Hefeinvertins. A. 606, 134 (1957).
78. Schlubach, H.H. und Rathje, E.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XXVI. Über das Kritesin. A. 561, 180 (1949).
79. Schlubach, H.H. und Schmidt, H.: Untersuchungen über Fructoseanhydride. XVI. Die Identität des Inulins aus verschiedenen Pflanzen. A. 520, 43 (1935).
80. Schlubach, H.H. und Trautschold, E.W.: Über den Kohlenhydratstoffwechsel im Reis. Chem. Ber. 92, 2038 (1959).
81. Schwanitz, F.: Die Entstehung der Kulturpflanzen. Verständliche Wissenschaft, Springer-Verlag 1957.
82. Takehana, H. und Ogura, N.: Untersuchung über die Bestandteile von Sorghum (Zuckerhirse). 1. Mitt. Zuckerbestandteile in Sorghum-Stengeln und Verbindungen, die die Kristallisation von Zuckern stören. J. agric. chem. Soc. Japan 30, 644, (1956).
83. v. Telegdy Kováts, L.: Zur Kenntnis der Zusammensetzung von Säften und Sirupen aus Zuckerhirse (*Sorghum saccharatum*). Mitt. landwirtsch. Versuchsstat. Ung. 44, 182 (1941).
84. Trepatschew, Je.P. und Latypow, A.G.: Chem. Charakteristik einiger Sorten von ital. Kolbenhirse. Futtermittel-Versorg. 3, Nr.9, 57 (1952).
85. Vavilov, N.J.: The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Waltham, Mass. 1951.
86. Wanner, H. Phosphataseverteilung und Kohlenhydrattransport in der Pflanze. Planta 41, 190 (1952).
87. Whistler, R.L. und Durso, D.F.: Chromatographic Separation of Sugars on Charcoal. J. Am. Chem. Soc. 72, 677 (1950).
88. Ziegler, H.: Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate. Planta 47, 447 (1956).

89. Zimmermann, M.H.: Translocation of organic substances in trees. I. The nature of the sugars in the sieve tube exudate of trees. Plant physiol. 32/1, 288, (1957).
-

Lebenslauf

Am 15. Oktober 1936 wurde ich als Tochter des KFZ-Meisters und Fahrlehrers Josef Ziegler und seiner Ehefrau Margarethe, geborene Freidl, in Höchstädt/Do. geboren. Nach vierjährigem Besuch der dortigen Volksschule, absolvierte ich die Realschule in Dillingen/Do. 1951 wechselte ich dann an die Maria-Theresia-Oberrealschule in Augsburg über, wo ich 1954 das Abitur bestand. Im Herbst des gleichen Jahres begann ich an der Münchner Universität Chemie, Biologie und Erdkunde zu studieren. Nach Abschluss desselben mit dem Staatsexamen für das Höhere Lehramt begann ich im Herbst 1961 auf Anregung von Herrn Prof. Schlubach vorliegende Arbeit.

Übersicht 2

Trockensubstanz d. enteiweißten Löslichen d. Ernte I
= 438,8 gr

Auswaschen d. Mono-, Disacch. u. Salze (435,0 gr)

Fruktosane 32,5 gr 382,9 gr Mono-, Disacch., Salze
Sa. 415,4 gr = 95,5 % Ausbeute

Kohle-Celite-Säule (30,0 gr)

Saccharose 10,5 gr 7,8 gr Fruktosane = 26 Hauptfraktionen
Sa. 18,3 gr = 61,0 % Ausbeute

Frakt. 1-13 (Oligosacch.)

Frakt. 14-20
↓
verworfen

Frakt. 21-26 (hohe Poly-
fruktosane m. Verunreinigg.
2,1 gr)

Trenng. auf Papier (4,6 gr)

Ergebnis: reine Oligosacch.
(Bifurkose, Kestose, Isokestose)

Weiterverarbeitg. siehe
Übersicht 3/4

Übersicht 3

Trockensubstanz des enteweißten Löslichen d. Ernte II
= 288,3 gr

Auswaschen d. Mono-, Disacch. u. Salze (285,3 gr)

Fruktosane 17,8 gr 255,9 gr Mono-, Disacch., Salze
Sa. 273,7 gr = 94,9 % Ausbeute

Sephadex-Säule (17,0 gr)

0,1623 gr
1. Hauptfr.
nur hohe Poly-
fructosane

1,99 gr
2. Hauptfr.
Gemisch aus
hohen Polyfr.,
Penta- u. Tetra-
sacchariden

13,1 gr = Sa. 15,4209 gr = 90,6 % Ausbeute
3. Hauptfr.
nur Oligosacch.,
bes. Trisacchari-
de u. Saccharose

Weiterverarbeitg.
siehe Übersicht 3/4

verworfen

Papiertrenng. (13,1 gr)

Ergebnis: Ausbeute 76,3%

8,8 gr reine Saccharose u. reine
Oligosaccharide (Kestose, Neo-
kestose u. zwei unbek. Substanz.)

Übersicht 3/4

Übersicht über die Gewinnung der hochpolymeren Polyfruktosane für die Methylierungsanalyse.

2,1gr hohe Polyfruktosane der Hauptfraktionen 21-26
und 1,1gr hohe Polyfruktosane aus einer früheren Hirse-
aufarbeitung i. J. 1960

